

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

BLACK BORDERS

- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
18 janvier 2001 (18.01.2001)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 01/03833 A1

(51) Classification internationale des brevets⁷: B01L 3/00,
G01N 21/03

(21) Numéro de la demande internationale:
PCT/FR00/02016

(22) Date de dépôt international: 12 juillet 2000 (12.07.2000)

(25) Langue de dépôt: français

(26) Langue de publication: français

(30) Données relatives à la priorité:
99/09089 13 juillet 1999 (13.07.1999) FR

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US): COM-
MISSARIAT A L'ÉNERGIE ATOMIQUE [FR/FR];
31-33, rue de la Fédération, F-75752 Paris 15ème (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement): CHATON,
Patrick [FR/FR]; "Loutre", F-38750 Theys (FR). AMIN-
GUAL, Daniel [FR/FR]; 2, rue Jean Macé, F-38000
Grenoble (FR). CAILLAT, Patrice [FR/FR]; 10, rue de
Provence, F-38130 Echirolles (FR).

(74) Mandataire: WEBER, Etienne; Brevatome, 3, rue du
Docteur Lancereaux, F-75008 Paris (FR).

(81) États désignés (national): JP, US.

(84) États désignés (régional): brevet européen (AT, BE, CH,
CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT,
SE).

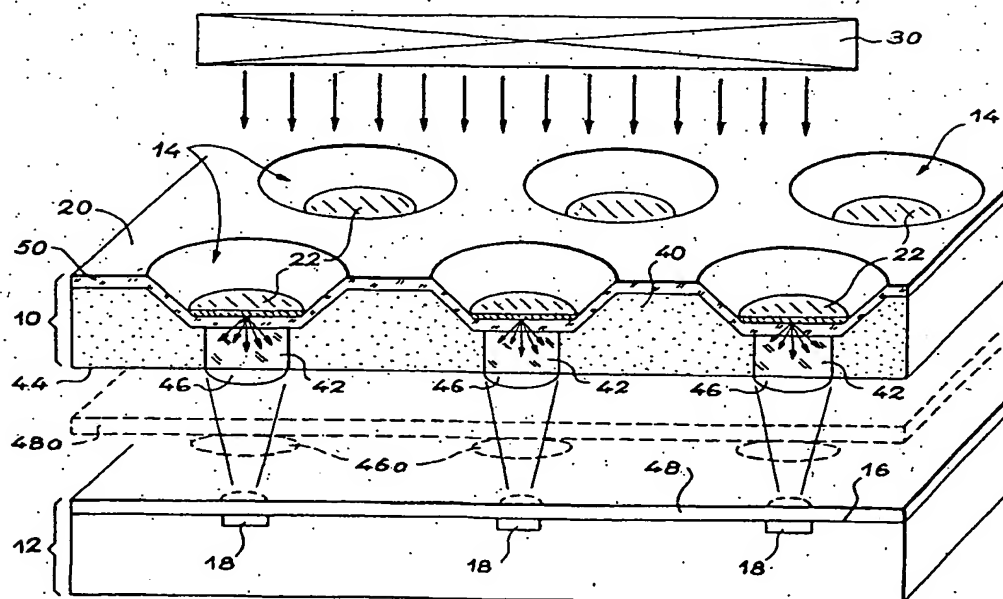
Publiée:

— Avec rapport de recherche internationale.

[Suite sur la page suivante]

(54) Title: ANALYSIS SUPPORT WITH FLUORESCENT LIGHT TRANSMISSION

(54) Titre: SUPPORT D'ANALYSE A TRANSMISSION DE LUMIERE DE FLUORESCENCE



(57) Abstract: The invention concerns an analysis support (10), in particular a biochip, comprising a first surface (20) provided with sites (14) for receiving probes and a second surface (44) opposite the first capable of being associated with light sensing means, the analysis support having a plurality of regions (42) transparent to fluorescent light, forming light passages between the sites and said second surface, said regions being mutually separated by regions (40) opaque to said fluorescent light.

[Suite sur la page suivante]

WO 01/03833 A1



— Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues.

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

(57) Abrégé: La présente invention concerne un support d'analyse (10), en particulier biopuce, comprenant une première face (20) pourvue de sites (14) de réception de sondes et une deuxième face (44) opposée à la première face et susceptible d'être associée à des moyens de détection de lumière, le support d'analyse présentant une pluralité de régions (42) transparentes à une lumière de fluorescence, formant des passages de lumière entre les sites et ladite deuxième face, lesdites régions étant mutuellement séparées par des régions (40) opaques à ladite lumière de fluorescence.

SUPPORT D'ANALYSE A TRANSMISSION DE LUMIERE DE FLUORESCENCE

Domaine technique

5 La présente invention concerne un support d'analyse et un système d'analyse incluant ledit support et des moyens optiques de lecture du support. Elle concerne plus précisément des supports d'analyse biologique, encore désignés par "biopuces".

10 Les biopuces comportent une pluralité de sites d'analyse équipés de sondes. Les sondes sont des molécules capables de reconnaître et de fixer de façon sélective de la matière biologique ou capables de provoquer des réactions chimiques ou biochimiques avec
15 des molécules cibles se trouvant dans un milieu à analyser.

 Les sondes sont par exemple des acides nucléiques tels que des brins d'ADN, fixés sur les sites et capables de s'apparier avec des brins d'ADN
20 complémentaires ou brins cibles se trouvant dans l'analyte. D'autres types de reconnaissance tels que la reconnaissance anticorps-antigène peuvent également être mis en oeuvre pour provoquer un appariement sélectif entre les sondes et les cibles.

25 L'invention trouve des applications d'analyse et de diagnostic dans notamment les domaines médical, pharmacologique, agro-alimentaire et environnemental.

Etat de la technique antérieure

30 Comme évoqué dans la partie introductive, les biopuces fonctionnent sur un principe de reconnaissance

entre des sondes, fixées sur des sites d'analyse de la puce, et des cibles qui sont notamment des molécules ou des brins d'ADN du milieu à analyser. Une illustration des techniques de préparation des sites, et en particulier de leur garniture avec les sondes biologiques ou chimiques, est donnée, par exemple, par des documents (1) et (2) dont les références sont précisées à la fin de la présente description.

Après avoir mis en contact une biopuce avec le milieu à analyser il convient d'examiner les sites pour déterminer lesquels ont été le siège d'une réaction ou d'un appariement.

La connaissance de ces sites, et la connaissance du type de sondes qui les équipent, permettent de déterminer la composition du milieu.

L'examen des sites est facilité en utilisant un milieu à analyser dont les molécules ou les brins d'ADN cibles sont porteurs d'un marqueur fluorescent ou fluorophore. Dans ce cas, en effet, l'examen de la puce se résume à une étape d'excitation de l'ensemble des marqueurs fluorescents qu'elle porte, et une étape de lecture des sites pour détecter la lumière de fluorescence réémise par les marqueurs. On sait alors que les sites pour lesquels une lumière de fluorescence est détectée, sont ceux qui ont fixé des molécules ou des brins d'ADN cibles.

On connaît différents types d'équipements utilisés pour la lecture des sites. Parmi ces équipements, on peut citer les systèmes optiques tels que le microscope confocal. Ces systèmes sont généralement associés à des moyens de déplacement de la

puce dans un plan, de façon à balayer successivement tous les sites.

Les équipements de lecture des sites explorant les sites les uns après les autres ne sont bien adaptés que pour les biopuces comprenant un nombre de sites d'analyse relativement faible. En outre, les appareillages utilisés doivent respecter des exigences de précision élevées et sont donc particulièrement coûteux.

A titre d'alternative, le document (3), dont les références sont également précisées à la fin de la description, propose d'utiliser comme support de puce une rétine de type CCD (à couplage de charge). De telles rétines, connues dans les caméras électroniques, permettent de mesurer directement et simultanément la lumière de fluorescence émise depuis un grand nombre de sites.

Les sondes sont formées sur les pixels de la rétine, directement ou par l'intermédiaire d'un revêtement amovible.

Lorsque la densité de sites est importante un tel dispositif peut cependant poser des problèmes de résolution et de diaphotie entre les pixels. La diaphotie est un phénomène d'interférence mutuelle entre les lumières de fluorescence produites sur différents sites. Ce phénomène affecte la précision et l'acuité de la lecture.

Exposé de l'invention

L'invention a pour but de proposer un support d'analyse et un système d'analyse ne présentant pas les limitations ou difficultés mentionnées ci-dessus.

5 Un but est en particulier de proposer un support peu coûteux avec un nombre très élevé de sites, susceptibles d'être lus avec précision au moyen d'une rétine électronique.

Pour atteindre ces buts, l'invention a plus
10 précisément pour objet un support d'analyse, en particulier une biopuce, comprenant une première face pourvue de sites de réception de sondes, encore appelés sites d'analyse, et une deuxième face opposée à la première face et susceptible d'être associée à des
15 moyens de détection de lumière. Le support d'analyse présente une pluralité de régions transparentes à une lumière de fluorescence, formant des passages de lumière entre les sites et ladite deuxième face, les régions étant mutuellement séparées par des régions
20 opaques à la lumière de fluorescence.

Grâce aux passages de lumière formés par les régions transparentes, la lumière de fluorescence susceptible d'être émise par des molécules cibles marquées présentes sur les sites, est disponible sur la
25 deuxième face libre, c'est-à-dire la face dépourvue de sites, pour une lecture de la puce.

Cette caractéristique facilite grandement la mise en place du support d'analyse sur une rétine électronique.

30 De plus, comme la première face équipée des sites reste libre, il est possible d'envisager de façon

simultanée, l'excitation des marqueurs fluorescents par une source de lumière tournée vers la première face et la lecture des sites par une rétine tournée vers la deuxième face.

5 Les régions opaques du support d'analyse ont une fonction essentielle qui consiste à réduire ou à empêcher la propagation de la lumière de fluorescence émise par un site vers un site voisin ou vers une partie d'une rétine électronique associée à un site
10 voisin. En d'autres termes, les régions opaques constituent une isolation optique entre les sites.

Les phénomènes parasites de diaphotie, évoqués précédemment s'en trouvent réduits ou annulés.

Selon une réalisation particulière du support
15 d'analyse, celui-ci peut comporter une plaque de matériau opaque formant lesdites régions opaques et traversée par une pluralité de caissons en un matériau transparent à la lumière de fluorescence. Ces caissons forment alors lesdites régions transparentes. Le
20 matériau opaque entoure ainsi les régions transparentes et fixe latéralement les limites du passage de lumière associé à chaque site.

Selon une autre réalisation possible, le support peut comporter une plaque de matériau
25 transparent à la lumière de fluorescence et formant lesdites régions transparentes. Dans ce cas le support comprend aussi au moins une couche de masque formée sur au moins une face de la plaque, ladite couche de masque s'étendant en dehors des régions transparentes et
30 formant lesdites régions opaques.

Les transmissions et réflexions parasites de lumière entre les sites sont empêchés par la couche de masque.

La couche de masque peut être d'un seul tenant, c'est-à-dire entourer entièrement les régions transparentes sur la deuxième face, ou être formée d'une pluralité d'éléments opaques disjoints.

La couche de masque peut être formée sur l'une des première ou deuxième faces support d'analyse. Une couche de masque peut également être formée sur chacune des faces. Les ouvertures des masques sur les faces opposées sont alors agencées de façon à coïncider entre elles et avec les sites.

Selon un aspect particulier avantageux de l'invention, le matériau des régions transparentes peut être un matériau sensiblement opaque pour un spectre de longueurs d'onde comprenant au moins une longueur d'onde d'excitation de marqueurs fluorescent de molécules cibles susceptibles d'être fixées sur les sites, et sensiblement transparent à un spectre de longueurs d'onde comprenant au moins une longueur d'onde de fluorescence desdits marqueurs.

Grâce à ces caractéristiques, tout ou partie d'une lumière d'excitation appliquée aux sites sur la première face est arrêtée et seule la lumière de fluorescence est dirigée vers la deuxième face. Ainsi, lorsqu'une rétine de lecture est disposée au voisinage de la deuxième face, celle-ci se trouve affranchie dans une large mesure de la lumière d'excitation. Une lecture avec une plus grande sensibilité est par conséquent possible.

A titre d'alternative, ou de façon complémentaire, le support peut comporter en outre une couche de filtre optique formée sur la première face et destinée à retenir au moins une longueur d'onde d'une
5 lumière d'excitation des marqueurs fluorescents. En particulier, le filtre peut être conçu pour retenir l'ensemble du spectre d'excitation.

Pour augmenter encore l'acuité et la sensibilité de la lecture des sites par une rétine
10 électronique, le support peut être équipé d'une pluralité de lentilles optiques, formées sur la deuxième face et coïncidant avec lesdites régions transparentes.

Les lentilles collectent la lumière de
15 fluorescence pour la concentrer de façon localisée, par exemple sur une rétine électronique, et en particulier sur des zones photosensibles, ou pixels, de la rétine.

L'invention concerne également un système d'analyse biologique comprenant un support d'analyse
20 tel que décrit précédemment et un système de lecture équipé d'une rétine électronique associée à la deuxième face du support.

La rétine électronique peut être équipée d'une pluralité de zones photosensibles, coïncidant avec les
25 régions transparentes du support d'analyse lorsque celui-ci est disposé sur la rétine.

Il s'agit par exemple d'une rétine de silicium du type CCD (à couplage de charges) ou CMOS (metal-
oxyde-semi-conducteur complémentaire). De telles
30 rétines sont connues et utilisées par exemple dans des caméscopes.

La rétine électronique peut présenter en particulier une face sensible, tournée vers le support d'analyse, qui est recouverte d'un filtre antiréflexion accordé sur au moins une longueur d'onde de la lumière de fluorescence. Ce filtre a essentiellement une fonction antiréflexion destinée également à limiter une diaphotie entre les pixels, due à divers phénomènes parasites tels que des réflexions multiples.

D'autres caractéristiques et avantages de l'invention ressortiront mieux de la description qui va suivre, en référence aux figures des dessins annexés. Cette description est donnée à titre purement illustratif et non limitatif.

Brève description des figures

- La figure 1 est une coupe schématique partielle illustrant une première possibilité de réalisation d'un système d'analyse conforme à l'invention.

- La figure 2 est un diagramme de transmission d'un filtre optique permettant de séparer la lumière d'excitation et d'émission des fluorophores. Il bloque la lumière d'excitation et il laisse passer la lumière de fluorescence.

- La figure 3 est une coupe schématique partielle illustrant une deuxième possibilité de réalisation d'un système d'analyse conforme à l'invention.

Description détaillée de modes de mise en oeuvre de l'invention

Dans la description qui suit, des parties identiques, similaires ou équivalentes des différentes figures sont désignées par les mêmes références, afin de faciliter la lecture des figures.

Le système d'analyse de la figure 1 comprend deux éléments principaux qui sont un support d'analyse 10 et un dispositif de lecture 12, équipé par exemple d'une rétine électronique.

Le support d'analyse peut être disposé de façon amovible sur le dispositif de lecture ou à proximité d'une face photosensible 16 de celui-ci, de façon à effectuer une lecture d'un certain nombre de sites d'analyse 14 du support d'analyse.

Dans l'exemple illustré, la face photosensible 16 du dispositif de lecture est plus particulièrement pourvue de zones photosensibles 18 qui constituent des pixels d'une rétine à transfert de charge du type CCD.

L'agencement des sites d'analyse 14 sur le support d'analyse 10 est conçu de façon à pouvoir associer un pixel 18 du dispositif de lecture à chaque site d'analyse.

Les pixels 18 sont destinés à détecter la présence ou l'absence, et éventuellement l'intensité d'une lumière de fluorescence émise depuis des marqueurs fluorescents, présents sur des sites d'analyse. La lumière de fluorescence permet de reconnaître ainsi les sites sur lesquels une réaction chimique ou biologique a eu lieu.

Les sites d'analyse 14 se présentent sous la forme de petites cuvettes pratiquées sur une première face 20 du support d'analyse.

Le fond des cuvettes est garni de réactifs 5 chimiques ou biologiques. Comme évoqué dans la partie introductive, ces réactifs sont désignés par sondes et susceptibles de réagir avec des molécules ou de la matière biologique du milieu à analyser.

Dans l'exemple illustré, les réactifs sont des 10 sondes d'oligonucléotides constituées de bases azotées GCTA. Les sondes peuvent être fixées au fond des cuvettes au moyen d'une opération de silanisation et de dépôt de stréptavidine. Pour la fixation des sondes, on peut se reporter également aux documents (1) et (2) 15 déjà mentionnés.

Il convient de noter que les différents sites d'une même support d'analyse peuvent être pourvus de différents types de sondes.

Après cette première opération de 20 fonctionnalisation des sites, le support d'analyse est mis en contact avec un milieu contenant, par exemple, des oligonucléotides à reconnaître. Ceux-ci constituent les "cibles".

La reconnaissance peut être basée sur la 25 complémentarité de bases azotées. Une hybridation entre cibles et sondes a alors lieu selon les lois d'appariement G-C et T-A.

Pour reconnaître les sites sur lesquels une 30 hybridation a eu lieu, les oligonucléotides cibles sont porteurs de marqueurs fluorescents tels que la fluorescéine, le CY₃, ou le CY₅, par exemple.

Le tableau I ci-après indique, pour ces trois marqueurs, la longueur d'onde centrale d'une lumière d'excitation notée λ_p et la longueur d'onde de la lumière de fluorescence réémise et notée λ_f . Les longueurs d'onde sont exprimées en nanomètres.

TABLEAU I

| MARQUEUR | λ_p (nm) | λ_f (nm) |
|-----------------|------------------|------------------|
| Fluorescéine | 494 | 520 |
| CY ₃ | 550 | 570 |
| CY ₅ | 649 | 670 |

Sur la figure 1, les oligonucléotides, sondes ou cibles, sont représentés sous la forme d'un dépôt au fond des cuvettes des sites d'analyse 14, et désignés avec la référence 22.

La lecture du support d'analyse fait appel à une lumière d'excitation, indiquée par des flèches, et fournie par une source de lumière 30 disposée en regard de la première face 20. La source de lumière 30 peut être par exemple un laser émettant une lumière à une longueur d'onde voisine de la longueur d'onde λ_p du marqueur fluorescent utilisé. La source de lumière peut aussi être une source incohérente dont le spectre d'émission comprend la longueur d'onde λ_p .

Le support d'analyse 10 de la figure 1 est formé d'une structure de matière opaque (aux longueurs d'onde λ_p et λ_f) constituant des régions 40 dites "régions opaques". Cette structure est traversée de

passages de lumières formés par des régions 42 dites "régions transparentes".

En particulier, le matériau des régions transparentes est choisi pour être transparent à la longueur d'onde λ_f de la lumière de fluorescence. Eventuellement, il est avantageux d'utiliser un matériau transparent à la longueur d'onde λ_f de la lumière de fluorescence et sensiblement opaque, ou atténuant la longueur d'onde λ_p de la lumière d'excitation.

Les passages de lumière formés par les régions transparentes permettent la transmission de la lumière de fluorescence vers une deuxième face 44 du support d'analyse, tournée vers la face photosensible 16 du dispositif de lecture. La lumière se propage ensuite de la deuxième face 44 vers les pixels 18 du dispositif de lecture.

Les régions opaques ont essentiellement pour rôle d'éviter que de la lumière provenant d'un site d'analyse, n'interfère avec celle d'un site voisin ou qu'elle n'atteigne un pixel qui n'est pas celui qui lui est spécifiquement associé.

Ce rôle peut être renforcé par un ensemble de lentilles 46 formées sur la deuxième face 44 du support d'analyse et coïncidant respectivement avec les régions transparente 42.

Les lentilles sont prévues en effet pour faire converger la lumière de fluorescence de chaque site vers un pixel associé du dispositif de lecture.

Selon une variante, représentée en trait discontinu, les lentilles du support d'analyse peuvent

être remplacées par un réseau de lentilles 46a formées sur un support séparé du support d'analyse. Ceci permet de conserver les lentilles sur le dispositif de lecture et réduire le coût de fabrication du support d'analyse.

- 5 Le support d'analyse peut être fabriqué à partir d'une plaquette de silicium, gravée, par exemple, suivant des plans cristallographiques préférentiels selon une technique de gravure chimique (KOH). Les régions transparentes du support d'analyse
10 peuvent alors être obtenues par oxydation thermique localisée du silicium. Dans ces régions le silicium est transformé en oxyde de silicium SiO_2 .

- Les lentilles 46 dont l'ouverture peut varier de 1,5 à 30, peuvent être obtenues par fluage d'une
15 résine sur la deuxième face 44 du support d'analyse 10. Une description de techniques pour la réalisation des lentilles peut aussi être trouvée dans le document (4) dont les références sont précisées à la fin de la description.

- 20 La référence 48 désigne un filtre antireflet déposé sur la face photosensible du dispositif de lecture. De la même façon, le support du réseau de microlentilles peut également être constitué ou équipé d'un filtre antireflet 48a.

- 25 Enfin, on observe que la première face 20 du support d'analyse est également recouverte d'un filtre optique 50. Ce filtre a essentiellement pour rôle de bloquer la lumière d'excitation dirigée vers les sites d'analyse et de ne laisser passer vers le dispositif de
30 lecture que la lumière de fluorescence.

Le filtre optique 50 est par exemple un filtre interférentiel formé d'une alternance de couches $\text{TiO}_2/\text{SiO}_2$. Ses caractéristiques et en particulier son taux de réjection, compris entre 10^2 et 10^6 , peuvent
5 être ajustés en fonction d'une qualité de détection recherchée.

La figure 2 est un diagramme représentant la courbe de transmission du filtre 50.

10 On définit une longueur d'onde de coupure λ_c du filtre pour laquelle le coefficient de transmission T_c est de 50%.

Pour une gamme de longueurs d'onde inférieure à λ_c , et comprenant notamment la longueur d'onde λ_p de la
15 lumière d'excitation, par exemple à 490 nm, la transmission T_p du filtre est très petite par rapport à T_c .

En revanche, pour une plage de longueurs d'onde supérieure à λ_c , comprenant notamment la longueur
20 d'onde λ_f de la lumière de fluorescence, par exemple à 530 nm, la transmission T_p est très élevée par rapport à T_c .

Un taux de réjection τ du filtre est défini par

$$\tau = \frac{T_f}{T_p}$$

25 La valeur λ_c de la longueur d'onde de coupure du filtre est choisie en fonction du type de marqueur utilisé de façon à permettre un passage sélectif de la lumière de fluorescence.

On peut se reporter à cette fin au tableau I,
30 par exemple.

La figure 3, décrite ci-après, illustre une autre possibilité de réalisation du support d'analyse de l'invention.

5 Le support d'analyse 10 comprend une plaque de matériau transparent, par exemple en verre.

Sur une première face 20 de la plaque de verre sont déposées des microgouttes 22 de liquide contenant des sondes d'ADN. Ces gouttes définissent ainsi les
10 sites 14 du support d'analyse.

De façon plus précise, les microgouttes sont déposées selon un agencement régulier sur une couche de filtre optique 50, telle que décrite précédemment en référence aux figures 1 et 2, qui recouvre la première
15 face.

Sur la deuxième face 44 du support d'analyse se trouve un masque 41 en un matériau absorbant la lumière (opaque) tel que de l'oxyde de chrome (Cr_2O_3) par exemple. Le masque 41 présente des ouvertures qui
20 coïncident avec l'emplacement des sites d'analyse 14, définis par les gouttes déposées sur la première face 20.

Les parties du support d'analyse coïncidant avec les ouvertures du masque correspondent à des
25 régions transparentes 42 comparables aux régions transparentes définies en référence à la figure 1.

De la même façon, les parties coïncidant avec des plages de matériau absorbant la lumière (opaque) constituent des régions 40 appelées "régions opaques"
30 du support d'analyse.

Le masque 41 a essentiellement pour fonction de limiter la diaphotie entre les sites d'analyse voisins et de limiter la réflexion de Fresnel à l'interface entre le matériau du support d'analyse, en l'occurrence le verre, et le milieu environnant. Il permet ainsi d'éviter l'influence d'une lumière parasite susceptible d'affecter la mesure de la lumière de fluorescence.

Pour la réalisation d'un tel masque, on peut se reporter au document (5) dont les références sont précisées à la fin de la description.

Le support d'analyse de la figure 2, tout comme celui de la figure 1 est associé à une source 30 de lumière d'excitation et à un dispositif de lecture 12 apte à mesurer sélectivement la lumière de fluorescence émise par chaque site d'analyse, et transmise à travers les régions transparentes 42.

Les références 18 désignent des zones photosensibles d'une rétine électronique du dispositif de lecture 12. Les zones photosensibles sont formées respectivement d'un ou de plusieurs pixels et sont associées chacune à un site particulier du support d'analyse.

La concentration de la lumière sur les pixels peut être améliorée par des lentilles 46 formées sur la deuxième face du support d'analyse. On peut se reporter à ce sujet à la description relative à la figure 1.

Dans une réalisation particulière du système d'analyse selon la figure 2, le dispositif de lecture peut comporter une couche de filtre optique 50a, représentée en trait discontinu sur la figure 2.

Cette couche 50a présente sensiblement les mêmes caractéristiques que la couche 50 formée sur la première face du support d'analyse et est destinée à arrêter la lumière d'excitation tout en laissant passer
5 la lumière de fluorescence.

La couche 50a peut remplacer ou compléter une couche antireflet telle que la couche antireflet 48 représentée à la figure 1.

Lorsque le dispositif de lecture est équipé
10 d'une couche de filtre 50a apte à éliminer la lumière d'excitation, il peut être utilisé avec des supports d'analyse qui sont dépourvus d'une telle couche. Ceci permet de réduire le coût des supports d'analyse.

Une telle mesure suppose cependant que le
15 dispositif de lecture soit utilisé pour l'analyse d'un milieu avec des cibles portant des marqueurs fluorescents adaptés.

DOCUMENTS CITES

20

(1)

"Electroconducting polymers for the construction of DNA or peptide arrays on silicon chips"

Thierry Livache et coll.

25

Biosensors & Bioelectronics 13 (1998) 629-634

(2)

US-A-5 474 796

30

(3)

"A Microchip for Quantitative Detection of Molecules Utilizing Luminescent and Radioisotope Reporter Groups"

5 M. Eggers et coll.

Bio Techniques, vol 17, n° 3, 1994, pages 516-523

(4)

10 "Fibre coupling of microchip lasers with silica microlenses"

M. Rabarot et coll.

Pure Appl. Opt. 6 (1997) 699-705

(5)

15 "A metal oxide approach for production of selectable absorption, enhanced contrast, anti-reflection coatings for the display market"

Ronald E. Laird, et coll.

20 Topical meeting on Optical Interference coatings, 5-9 June 1995, Tucson, USA Technical digest series volume 17, p. 364, 1995

REVENDICATIONS

1. Support d'analyse (10), en particulier biopuce, comprenant une première face (20) pourvue de sites (14) de réception de sondes et une deuxième face (44) opposée à la première face et susceptible d'être associée à des moyens de détection de lumière, le support d'analyse présentant une pluralité de régions (42) transparentes à une lumière de fluorescence, formant des passages de lumière entre les sites et ladite deuxième face, lesdites régions étant mutuellement séparées par des régions (40) opaques à ladite lumière de fluorescence, et dans lequel le matériau des régions transparentes (42) est un matériau sensiblement opaque pour un spectre de longueurs d'onde comprenant au moins une longueur d'onde d'excitation de marqueurs fluorescents susceptibles d'être présents sur les sites, et sensiblement transparent à un spectre de longueurs d'onde comprenant au moins une longueur d'onde de fluorescence desdits marqueurs.

2. Support selon la revendication 1, comprenant une plaque de matériau opaque formant lesdites régions opaques et traversée par une pluralité de caissons en un matériau transparent à la lumière de fluorescence, formant lesdites régions transparentes.

3. Support selon la revendication 1, comprenant une plaque de matériau transparent à la lumière de fluorescence formant lesdites régions transparentes et comprenant au moins une couche de masque (41) formée sur au moins une face de la plaque, ladite couche de

masque s'étendant en dehors des régions transparentes et formant lesdites régions opaques.

4. Support selon la revendication 3, dans lequel la couche de masque est formée d'une pluralité d'éléments opaques disjoints.

5. Support selon la revendication 1, comprenant en outre une couche de filtre optique (50) formée sur la première face et destinée à retenir au moins une longueur d'onde d'une lumière d'excitation des marqueurs fluorescents susceptibles d'être présents sur les sites.

6. Support selon la revendication 1, comprenant en outre une pluralité de lentilles optiques (46), formées sur la deuxième face (44) et coïncidant avec lesdites régions transparentes.

7. Dispositif de lecture d'un support d'analyse selon la revendication 1, comprenant une rétine électronique (12) équipée d'une pluralité de zones photosensibles (18), coïncidant avec les régions transparentes (42) lorsque le support d'analyse (10) est disposé sur la rétine (12).

8. Système d'analyse biologique comprenant :

- un support d'analyse (10) selon la revendication 1, et
- un dispositif de lecture pouvant être associé à la deuxième face (44) du support d'analyse.

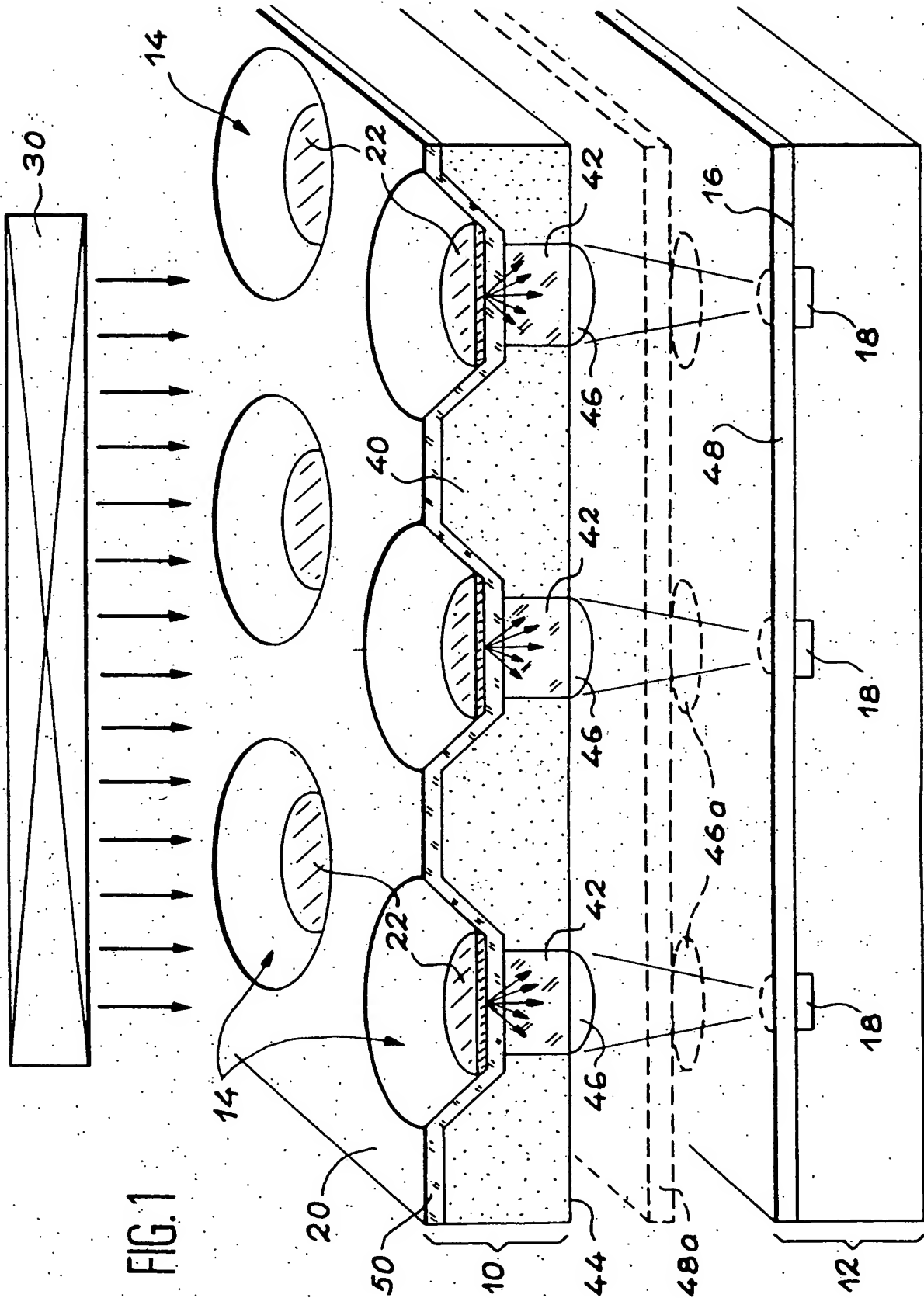
9. Système d'analyse selon la revendication 8, comprenant en outre une source de lumière d'excitation (30) tournée vers la première face (20) du support d'analyse.

10. Système d'analyse selon la revendication 9, comprenant en outre un réseau de lentilles (46a), associées respectivement aux régions transparentes (42) du support d'analyse (10), le réseau étant disposé entre le support d'analyse et la rétine électronique.

11. Système selon la revendication 8, dans lequel le dispositif de lecture comprend une rétine en silicium du type CCD (rétine à couplage de charge) ou du type CMOS (métal-oxyde-semi-conducteur-complémentaire).

12. Système selon la revendication 8, dans lequel la rétine électronique présente une face sensible, tournée vers le support d'analyse, qui est recouverte d'un filtre antiréflexion (48) accordé sur au moins une longueur d'onde de la lumière de fluorescence.

13. Système selon la revendication 8, dans lequel la rétine électronique comporte une pluralité de pixels (18) coïncidant respectivement avec les régions transparentes (42) du support d'analyse.



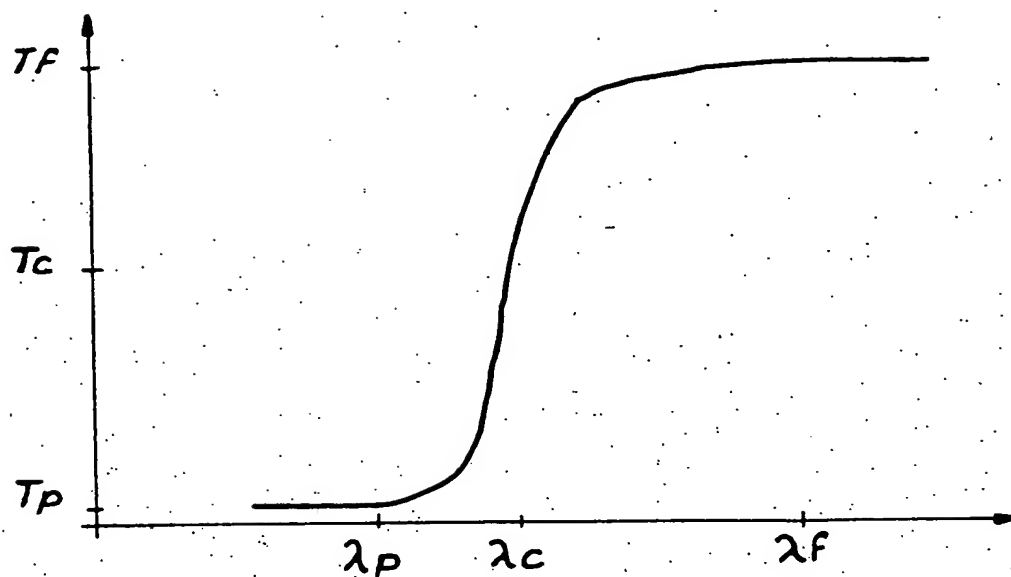


FIG. 2

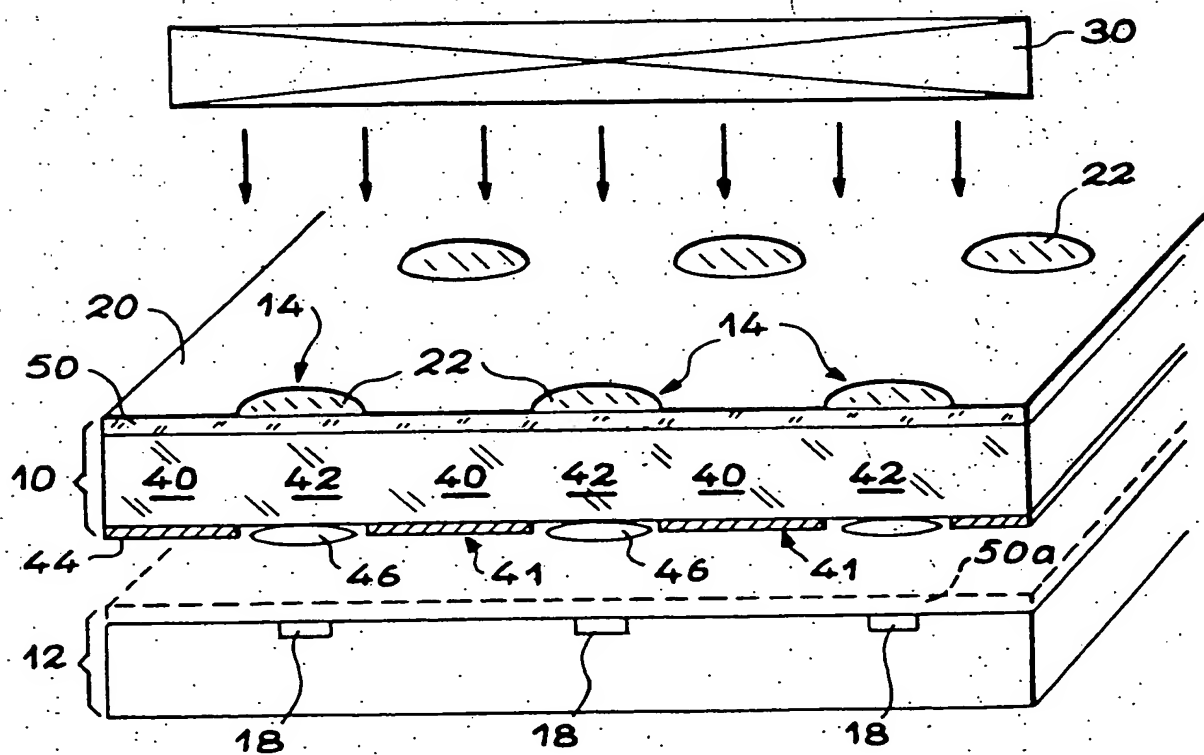


FIG. 3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Internat. Application No

PCT/FR 00/02016

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 IPC 7 B01L3/00 G01N21/03

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 B01L G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|------------|---|-----------------------|
| A | WO 98 28075 A (RAMM PETER ;IMAGING RESEARCH INC (CA)) 2 July 1998 (1998-07-02) page 5, line 6 - line 21 page 10, line 4 - line 9 page 11, line 7 - line 15; figure 1D | 1,3,4, 6-10 |
| A | US 5 169 601 A (OHTA MASATO ET AL) 8 December 1992 (1992-12-08) the whole document | 6-11 |
| A | PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 1995, no. 04, 31 May 1995 (1995-05-31) & JP 07 020037 A (J T SCI:KK), 24 January 1995 (1995-01-24) abstract | 1,3,4 |
| -/-- | | |

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- *&* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

13 December 2000

Date of mailing of the international search report

20/12/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Thomas, R.M.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Internat. Application No

PCT/FR 00/02016

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|------------|--|-----------------------|
| A | US 5 759 494 A (SZLOSEK PAUL M) 2 June 1998 (1998-06-02) column 2; line 34 - line 42; figures --- | 1,3,4 |
| P,A | WO 99 49974 A (DU PONT MERCK PHARMA) 7 October 1999 (1999-10-07) abstract page 13 ----- | 1,2 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Internat Application No

PCT/FR 00/02016

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|---|---------------------|----------------------------|---------------------|
| WO 9828075 A | 02-07-1998 | AU 5233598 A | 17-07-1998 |
| US 5169601 A | 08-12-1992 | DE 4013586 A | 31-10-1991 |
| JP 07020037 A | 24-01-1995 | NONE | |
| US 5759494 A | 02-06-1998 | AU 7386396 A | 28-04-1997 |
| | | EP 0853496 A | 22-07-1998 |
| | | US 6033605 A | 07-03-2000 |
| | | WO 9712678 A | 10-04-1997 |
| WO 9949974 A | 07-10-1999 | AU 6791198 A | 18-10-1999 |

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No

PCT/FR 00/02016

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 7 B01L3/00 G01N21/03

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 B01L G01N

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

| Catégorie * | Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents | no. des revendications visées |
|-------------|---|-------------------------------|
| A | WO 98 28075 A (RAMM PETER ; IMAGING RESEARCH INC (CA)) 2 juillet 1998 (1998-07-02) page 5, ligne 6 - ligne 21 page 10, ligne 4 - ligne 9 page 11, ligne 7 - ligne 15; figure 1D | 1, 3, 4, 6-10 |
| A | US 5 169 601 A (OHTA MASATO ET AL) 8 décembre 1992 (1992-12-08) le document en entier | 6-11 |
| A | PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 1995, no. 04, 31 mai 1995 (1995-05-31) & JP 07 020037 A (J T SCI:KK), 24 janvier 1995 (1995-01-24) abrégé | 1, 3, 4 |

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- *A* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- *E* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- *L* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- *O* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- *P* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- *T* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- *X* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- *Y* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- *Z* document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

13 décembre 2000

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

20/12/2000

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Thomas, R.M.

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No

PCT/FR 00/02016

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

| Catégorie | Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents | no. des revendications visées |
|-----------|---|-------------------------------|
| A | US 5 759 494 A (SZLOSEK PAUL M) 2 juin 1998 (1998-06-02) colonne 2, ligne 34 - ligne 42; figures ----- | 1,3,4 |
| P,A | WO 99 49974 A (DU PONT MERCK PHARMA) 7 octobre 1999 (1999-10-07) abrégé page 13 ----- | 1,2 |

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale No

PCT/FR 00/02016

| Document brevet cité au rapport de recherche | Date de publication | Membre(s) de la famille de brevet(s) | Date de publication |
|---|------------------------|---|------------------------|
| WO 9828075 A | 02-07-1998 | AU 5233598 A | 17-07-1998 |
| US 5169601 A | 08-12-1992 | DE 4013586 A | 31-10-1991 |
| JP 07020037 A | 24-01-1995 | AUCUN | |
| US 5759494 A | 02-06-1998 | AU 7386396 A | 28-04-1997 |
| | | EP 0853496 A | 22-07-1998 |
| | | US 6033605 A | 07-03-2000 |
| | | WO 9712678 A | 10-04-1997 |
| WO 9949974 A | 07-10-1999 | AU 6791198 A | 18-10-1999 |